

**Estructura del tallo y ontogenia
de los diafragmas caulinos en
Phytolacca icosandra L.***

por

Lucía Camacho Granados**

(Recibido para su publicación el 26 de noviembre de 1978)

Abstract: In *Phytolacca icosandra* the formation of cauline diaphragms is the result of the desintegration of the medular tissue when anomalous secondary growth begins. The presence of a diaphragm in these plants is possibly due to the necessity of reducing stem weight, the early initiation of secondary growth, and the accelerated growth of this species.

Phytolacca icosandra está ampliamente distribuida en Costa Rica y es conocida por el vulgo como “jaboncillo”, “tinta” y “calalú”. Con frecuencia se observa en prados del Valle Central, el Valle de Cartago, en la Costa Atlántica y hasta en la Isla del Coco. Puede ascender hasta los 1.850 metros sobre el nivel del mar (Standley, 1937).

Esta especie, de tallos verdes comestibles y raíces venenosas, tiene un tallo de 1-1,5 m de longitud, que en etapas tardías de desarrollo muestra una oquedad en la médula o típicos diafragmas nodales e internodales. Los diafragmas caulinos, típicos de monocotiledóneas acuáticas o semiacuáticas son poco conocidos en dicotiledóneas. Metcalfe y Chalk (1965) mencionan que los tallos de Umbelliferae y Moraceae presentan una médula hueca; esta oquedad se interrumpe en el primer grupo mediante septos nodales. No se encontró en la literatura consultada explicación alguna referente a la desintegración de esta estructura.

Los diafragmas son de amplia distribución y se forman en casi todos los órganos de las plantas; son abundantes en láminas foliares y tallos aéreos, aunque también se observan en pedúnculos, raíces y rizomas (Snow, 1914). Usualmente se asocia esta estructura con plantas acuáticas que en su mayoría son monocotiledóneas (Duval-Jouve 1869, 1871; De Bary, 1884; Schenck, 1887; Kaul, 1974). El único informe sobre diafragmas en dicotiledóneas es el de Snow (1914), quien describió los diafragmas perforados en los nudos de *Myriophyllum tenellum*.

El primer estudio amplio sobre diafragmas fue hecho en 1873 por Duval-Jouve, quien afirmó que estas estructuras son características de especies

* Parte de tesis presentada a la Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica para optar el grado de Licenciada en Biología.

** Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

acuáticas, y que las células que las forman son diferentes de las del parénquima circundante, pudiendo estar asociadas a haces vasculares en algunos casos.

Snow (1914) consideró que los diafragmas son característicos de plantas que crecen en el agua o en lugares muy húmedos, y se encuentran tanto en las partes sumergidas como aéreas de las plantas que los tienen. Kaul (1971, 1973, 1974) a través de sus estudios en *Scirpus validus* (Cyperaceae), *Typha latifolia* (Typhaceae) y *Sparganium eurycarpum* (Sparganiaceae) demostró la presencia frecuente de diafragmas en plantas acuáticas, y mencionó también el hecho de que éstas pueden estar presentes en algunas plantas terrestres.

La presencia de diafragmas en una dicotiledónea terrestre como *Phytolacca icosandra* permite comparar la ontogenia y anatomía de estas estructuras con las de las monocotiledóneas acuáticas citadas en la literatura, ya que no existen parámetros similares de comparación en dicotiledóneas terrestres.

MATERIAL Y METODOS

En esta investigación se emplearon plantas adultas de *Phytolacca icosandra* L. colectadas en Barrio Escalante, San José; San Antonio de Belén, Provincia de Heredia y en la Ciudad de Alajuela.

Se cortaron muestras de tallo en varias secciones. Después de fijado el material en FAA, se procedió a deshidratarlo en una serie de alcohol butílico terciario, para infiltrarlo finalmente con parafina. Los bloques se seccionaron a 8 ó 10 μm . Se hicieron cortes longitudinales y transversales, se tiñeron con safranina, ácido tánico y orange G (Sharman, 1943).

A fin de completar las observaciones al microscopio de luz, se hicieron algunos cortes de material fresco y se tiñeron con toluidina azul. Sobre la base de esas observaciones se hicieron los diagramas explicativos del desarrollo de los diafragmas.

Algunas de las muestras colectadas se fijaron en gluteraldehído al 4%, en un amortiguador de cacodilato de sodio 0,05 M, pH 7,0 durante 12 horas a 23 C o en FAA durante 48 horas. Después de la fijación, el material se deshidrató mediante series de etanol y se transfirió a una solución 1:1 de acetato de amilo y etanol absoluto y luego acetato de amilo. Los especímenes se sonicaron durante 2 ó 3 segundos para eliminar impurezas y las secciones se llevaron hasta el punto de secado crítico con CO₂. Se montaron los cortes en soportes de aluminio, empleando una cinta de doble superficie adhesiva y pintura de plata. Se colocaron en un cobertor iónico, en donde se cubrieron con una película de oro; luego se procedió a observar el material en un microscopio electrónico de rastreo Hitachi HHS-2R.

RESULTADOS

Apice del vástago: El ápice del vástago tiene forma de domo en que se distingue una túnica biseriada y un cuerpo. Las células iniciales de la túnica y la zona central del cuerpo se tiñen densamente y tienen núcleos grandes y numerosas vacuolas pequeñas. En contraste, la zona periférica se compone de células más pequeñas que se tiñen ligeramente y se dividen con mayor frecuencia que las de la zona central.

Un poco más lejos del ápice es posible distinguir el meristema que da origen a la médula, el procambium, un meristema periférico que origina la corteza, y la protodermis.

Desarrollo de las hojas: Los primordios foliares se originan en la periferia del meristema apical; las primeras divisiones periclinales, tienen lugar en las dos capas externas del cuerpo. Hay divisiones anticlinales y oblicuas en el área de iniciación foliar. La túnica se divide sólo anticlinalmente. Estas divisiones laterales dan origen a una pequeña protuberancia que se extiende hacia arriba, adoptando una forma cónica. Subsecuentemente el primordio aumenta en longitud y anchura, gracias a los meristemas marginales, siguiendo el patrón de desarrollo común a las hojas dorsiventrales de las dicotiledóneas. La hoja es pinnatinervia y de tipo anfiestomático.

A ambos lados del tallo se observa un par de costillas que se prolongan hasta la inserción de la hoja que se encuentra en el nudo superior. Sin embargo, la hoja es una entidad separada del tallo y ese engrosamiento está formado por tejido axial. La formación de lenticelas se inicia muy temprano. Los tallos son verdes y después adquieren un color morado al igual que las hojas.

Superficie adaxial de la lámina foliar: La lámina foliar se divide en numerosas aréolas, irregulares o poligonales, debido al fino retículo formado por las venas menores. El arreglo y forma de las células epidérmicas es diferente en aréolas y nervadura (Fig. 1). La epidermis que se encuentra sobre las venas está constituida por células más largas y de paredes lisas. Por el contrario, las células epidérmicas de las aréolas son de forma irregular. La superficie adaxial de la lámina foliar muestra pocos estomas de tipo ranunculáceo (Fig. 2), así como también algunas estructuras glandulares que secretan mucílago distribuidas en la haz de la hoja (Fig. 3).

Superficie abaxial de la lámina foliar: En el envés, las células epidérmicas que cubren las venas son de menor tamaño que las observadas en la haz. Al igual que en la superficie adaxial, éstas también son diferentes a las células de las aréolas. En las aréolas, las células epidérmicas son irregulares en forma, semejantes a las que se presentan en la haz. La superficie abaxial muestra numerosos estomas de tipo ranunculáceo o anomocítico. El poro estomático tiene una longitud de 22 a 24 μm , tamaño que es similar al de los estomas de la otra superficie. En esta superficie también se observan estomas de menor tamaño, cuyo poro está obstruido y las hifas de hongo son frecuentes. Las venas se proyectan hacia afuera. Las estructuras glandulares observadas en la haz también están presentes en el envés. Tanto en la superficie adaxial como en la abaxial, la epidermis es glabra.

Sección transversal de la hoja: En la sección transversal es posible observar ambas epidermis como capas uniseriadas. De trecho en trecho se observan las células oclusivas de los estomas, seguidas internamente por pequeñas cámaras subestomáticas. El mesofilo de empalizada consta de varias capas celulares. Este mesofilo se continúa con el mesofilo lacunar hacia la cara abaxial. Los haces vasculares son colaterales.

Estructura del tallo: La superficie externa del tallo de *Phytolacca icosandra* L. es irregular y forma cuatro costillas. Las células epidérmicas del tallo son de forma alargada (Fig. 4), y los estomas se distribuyen casi linealmente a lo largo del tallo, formando ligeras costillas en las que se observan con frecuencia aglomeraciones de 4 ó 5 estomas (Fig. 5). Las células epidérmicas adyacentes a los estomas son más cortas e irregulares que las de las zonas intercostales. En algunos casos los estomas están asociados a células subsidiarias, aunque el patrón no es uniforme.

En sección transversal la epidermis es uniseriada, con células incoloras de forma rectangular y desprovista de tricomas. Hacia el interior se observa una capa de ocho a diez células en grosor de colénquima angular (Fig. 6). La corteza está formada de parénquima constituido por células irregulares con pequeños espacios intercelulares entre sí. Las células corticales muestran organelas como núcleos, plastidios, dos nucleolos, e inclusiones como rafidios. Alrededor de la médula se observa un anillo de haces vasculares separado por áreas interfasciculares que se continúan con la corteza (Fig. 7). En el tallo joven los haces son colaterales; sin embargo, conforme madura el vástago aparecen haces de tipo anfifloico. La presencia de un anillo único de haces vasculares en el tallo que muestra un crecimiento secundario temprano, se caracteriza porque, en él, el floema es escaso y forma un anillo casi continuo de elementos floemáticos comprimidos entre el xilema y el parénquima cortical. Es evidente también la presencia de un anillo continuo de fibras protofloicas de dos a tres capas de células en grosor, que sirve de límite entre el floema y la corteza antes de producirse el crecimiento secundario (Fig. 8). Los elementos del protoxilema muestran engrosamientos anulares (Fig. 9), mientras que los del metaxilema muestran puntuaciones reticuladas o helicoidales (Fig. 10).

El crecimiento secundario se inicia con la formación de un cambium (Fig. 11) que produce un anillo vascular. Sucesivamente, se inicia el crecimiento secundario anómalo mediante la producción de cambia sucesivos. Cada cambium produce varias células de parénquima a ambos lados y luego forma células derivadas que se diferencian en elementos traqueales o tubos cribosos. En regiones interfasciculares el cambium da origen a rayos medulares pequeños formados por células de parénquima de forma isodiamétrica.

La médula está formada por un parénquima compacto de células isodiamétricas con espacios intercelulares muy pequeños entre sí. En estas células se observa claramente la presencia de un núcleo con uno o dos nucleolos en su interior. Es característica la ocurrencia de idioblastos con rafidios.

Origen y estructura de los diafragmas axiales: La médula de los tallos jóvenes está formada por células parenquimatosas de paredes delgadas (Fig. 12), atravesadas por abundantes plasmodesmos. Algunas de estas células, de forma alargada, localizadas en el centro de la médula, muestran cloroplastos y numerosas inclusiones. Las células medulares periféricas son más redondeadas y pequeñas que las centrales (Fig. 13).

Una vez iniciado el crecimiento secundario, se inicia una separación de las células medulares centrales por disolución de la lámina media en las respectivas paredes celulares. No hay un patrón uniforme de desintegración del tejido; sin embargo, en la mayoría de los casos el proceso de desintegración se extiende radialmente hasta formar espacios aéreos en el centro de la médula, que son interrumpidos de trecho en trecho por remanentes de tejido medular, a manera de tabiques transversales. Esta partición transversal constituye lo que se conoce como diafragma. En *Phytolacca icosandra* estas estructuras no tienen un patrón estructural definido, ni una distribución uniforme a lo largo del eje (Fig. 14). Al inicio, los diafragmas constan de varias capas de células en grosor (Fig. 15), posteriormente, conforme aumenta el crecimiento secundario, hay desintegración total de las células que forman el diafragma. Esta desintegración se produce primero en sentido longitudinal a lo largo del eje, y luego en sentido transversal hasta producir disminución en el grosor de los diafragmas, que finalmente desaparecen para formar un canal aéreo continuo a lo largo del tallo.

DISCUSION

Con frecuencia las monocotiledóneas acuáticas muestran la presencia de diafragmas en algunos o en todos sus órganos vegetativos, como posible solución a problemas de aereación interna o de biomasa mínima. Las plantas terrestres no sólo presentan diafragmas en escasas ocasiones, sino que a pesar de la amplitud de estudios realizados por los botánicos, no se conocen detalles sobre la presencia o ausencia de estas estructuras.

Si se comparan los estadios ontogenéticos de los diafragmas presentes en los tres géneros de monocotiledóneas acuáticas estudiadas por Kaul (1971, 1973, 1974) con los observados en el desarrollo de los diafragmas caulinos de *P. icosandra*, es evidente la diferencia que existe. Mientras que en las monocotiledóneas acuáticas el origen de las diferentes clases de diafragma está en el meristema intercalar, en el caso de *P. icosandra* el proceso de formación de los diafragmas responde a un fenómeno de desintegración del tejido medular al iniciarse el crecimiento anómalo secundario. Esta desintegración trae consigo la aparición de remanentes de tejido de la médula en forma de placas celulares transversales no perforadas o diafragmas.

Si el meristema intercalar en monocotiledóneas acuáticas es el encargado tanto de dar origen a los diafragmas como de producir las divisiones longitudinales de los compartimentos, la formación de unas y otras obedece a un patrón de desarrollo preestablecido. Por el contrario, en *P. icosandra* la formación de diafragmas no es producto de actividad de meristemas intercalares, sino un fenómeno correlacionado con el crecimiento secundario. Es posible que su aparición obedezca a la presión mecánica ejercida sobre la médula por los tejidos circundantes, como sucede en el tallo del maíz. Por lo tanto, la distribución y el tamaño de los diafragmas y de los espacios aéreos a lo largo del tallo no son uniformes. Los espacios aéreos formados de este modo han sido denominados espacios intercelulares rexígenos (Esau, 1977). Mientras que los diafragmas foliares de *Typha latifolia* y los de *Sparganium eurycarpum* se caracterizan por ser de diferentes clases (vasculares, no vasculares, fotosintéticos, estrellados) y por obedecer a una secuencia regular de alternancia (Kaul, 1971, 1973, 1974), los de *Scirpus validus* y de *P. icosandra* son todos iguales. En ambas plantas el tipo de diafragma no es fotosintético y está formado por varias capas de células en grosor. Otra diferencia básica entre los diafragmas de *Typha latifolia*, *Sparganium eurycarpum* y *Scirpus validus* con respecto a los de *P. icosandra*, es que estos tres géneros presentan diafragmas vasculares, mientras que *P. icosandra* no tiene haces vasculares transversales en los diafragmas.

Es interesante hacer notar que en las monocotiledóneas acuáticas citadas en la literatura, los diafragmas, ya sean foliares o caulinos, se mantienen presentes aún en la etapa madura del órgano que los porta. En *P. icosandra* durante el crecimiento secundario se produce una desintegración paulatina de las diferentes capas celulares que forman los diafragmas. Estos llegan finalmente a desaparecer por completo, produciendo un ducto aéreo en la cavidad del tallo. La única posible analogía con este proceso está en la desintegración de las bandas verticales parenquimatosas de *Typha latifolia*. Estas bandas se localizan entre los compartimentos donde están los diafragmas, y eventualmente se desintegran, conforme la hoja alcanza su madurez. Kaul (1974) sugiere que esa desintegración contribuye al mantenimiento de las células de los compartimentos, mientras éstos están en período de formación. En realidad, en *P. icosandra* la separación de paredes a lo largo de la lámina media y el colapso y ruptura de las células parece producirse debido a los ajustes de crecimiento que provoca el temprano inicio del crecimiento secundario. Al no

augmentar su talla ni dividirse como lo hacen las células circundantes, estas células se separan y se desintegran.

A los diafragmas se les han asignado diversas funciones: mecánicas, de soporte de haces vasculares transversales, de nutrición, y de circulación de aire, entre otras. Algunas de estas posibles funciones que se les han atribuido, son más fáciles de analizar debido a las hipótesis y teorías que se han formulado al respecto. Kaul (1972) ha sugerido que la presencia de haces vasculares transversales sólo en los diafragmas fotosintéticos de *Sparganium eurycarpum* es la clave de la función que desempeñan. Si todos los diafragmas fueran fotosintéticos, la luz sería incapaz de penetrar suficientemente dentro de la hoja joven y a las cámaras de aereación internas les haría falta el oxígeno proveniente de las células fotosintéticas vecinas.

Analizando el posible significado funcional que cumplen los diafragmas en el transporte de oxígeno, encontramos que la presencia de estas estructuras así como la del aerénquima, se pueden explicar a través de tres teorías. La "teoría del transporte" formulada por Williams y Barber (1961), afirma que la parte sumergida de una planta acuática depende de la parte aérea para su aereación. Como el sistema de espacios intercelulares es insuficiente para el transporte de todo el oxígeno que la planta necesita, se hace necesaria la presencia de un aerénquima que promueva el intercambio gaseoso. La mayoría de las plantas que presentan tejidos aerenquimatosos tienen sus cámaras aéreas limitadas por la presencia de diafragmas con poros de diámetro muy pequeño, de manera que la difusión de gases no está controlada por el tamaño de los canales aéreos, sino por la presencia de diafragmas porosos.

La "teoría de la reserva" según Williams y Barber (1961), considera que las partes sumergidas de la planta dependen de las partes aéreas para el suministro de oxígeno. Esta teoría sostiene que si los estomas están cerrados de noche, se produce una interrupción en el intercambio gaseoso, de donde se hace necesario contar con una reserva de aire oxigenado mientras se restablece el abastecimiento normal de oxígeno al día siguiente. Inmediatamente surgen tres objeciones a esta teoría. La primera de ellas reside en el hecho de que las afirmaciones que se hacen son notablemente reticentes en lo que se refiere a la función de las grandes reservas que se encuentran comúnmente en las hojas aéreas de las plantas acuáticas. La segunda objeción es el hecho de que la mayoría de los tejidos de las plantas, posean o no sistemas metabólicos especiales, son capaces de resistir períodos regulares de anaerobiosis sin sufrir ningún daño. Una tercera objeción es que se sabe que muchas plantas abren los estomas de noche.

La "teoría del soporte" considera que la fuerza de anclaje de una planta depende de la fricción entre la raíz y el substrato (Williams y Barber, 1961). En hábitats húmedos, esta fricción está muy reducida, razón por la cual los canales aéreos y diafragmas evolucionaron para compensar la reducción de la razón superficie-volumen en el interior de la planta, ya que si no fuera así se correría el riesgo de que las células que forman el sistema de anclaje no fueran capaces de soportar el movimiento continuo de la parte aérea. Un sistema de anclaje sumergido basado en las condiciones de las plantas terrestres no serviría, porque si bien mecánicamente resulta adecuado, sus requerimientos de oxígeno son muy altos. Lo que se requiere es una estructura interna semejante a un panal capaz de proveer a la planta con fortaleza necesaria, utilizando la menor cantidad de tejido posible.

Contrario a lo descrito para las plantas acuáticas o hidrófitas, las plantas mesófitas tienen un sistema continuo de espacios intercelulares pequeños, carecen de diafragma y tienen un sistema de anclaje diferente, ya que sus raíces son más

largas y menos ramificadas; *P. icosandra* puede clasificarse como una planta mesófito en el sistema de Warming (Daubenmire, 1947); como tal, es atípica al presentar diafragmas y espacios aéreos de gran tamaño. Sin embargo, tampoco es posible asignarle a sus diafragmas caulinos las funciones propuestas por las teorías anteriores, ya que esta planta dista mucho de parecerse a las hidrófitas. En esta planta los diafragmas y compartimentos parecen representar una etapa intermedia del proceso que culmina con la destrucción de la médula, cuya única ventaja es aligerar el peso del tallo. Esto quizá permita evitar los problemas de anclaje que podría producir el rápido crecimiento de la planta y el temprano inicio del crecimiento secundario.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue realizado en la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica. La autora desea expresar la más afectuosa gratitud para la Dra. Eugenia M. Flores V., la Lic. María Eugenia Barahona C., y el Dr. Rafael Lucas Rodríguez C., y el Dr. Yoshimichi Kozuka, por sus valiosas sugerencias y desinteresado apoyo en la realización de este trabajo.

RESUMEN

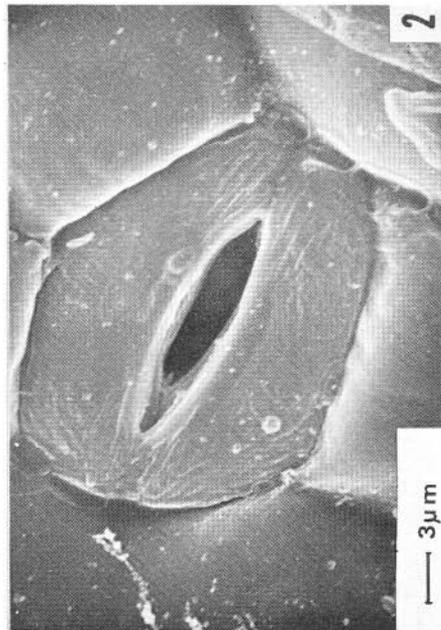
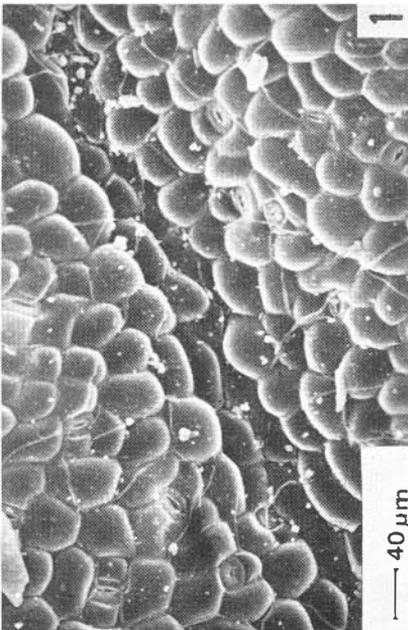
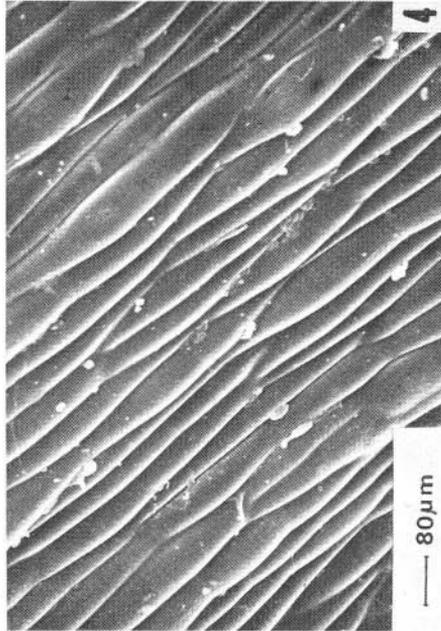
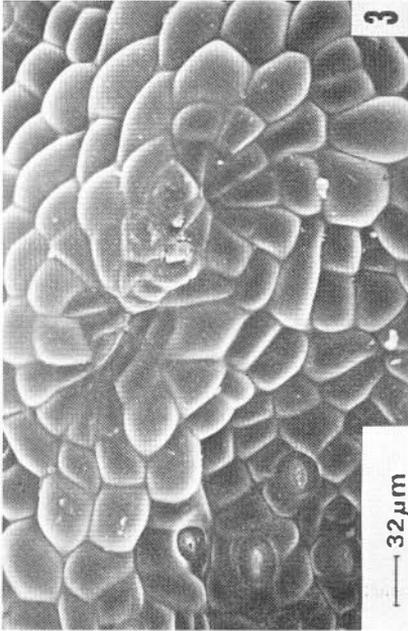
En *Phytolacca icosandra* el proceso de formación de los diafragmas caulinos es el resultado de un fenómeno de desintegración del tejido medular al iniciarse el crecimiento secundario anómalo. La presencia de diafragmas en esta planta posiblemente obedece a la necesidad de aligerar el peso del tallo debido al temprano inicio del crecimiento secundario y al acelerado desarrollo que exhibe esta especie.

LITERATURA CITADA

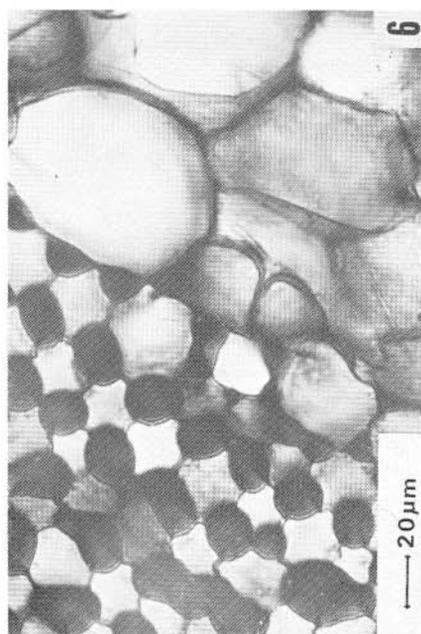
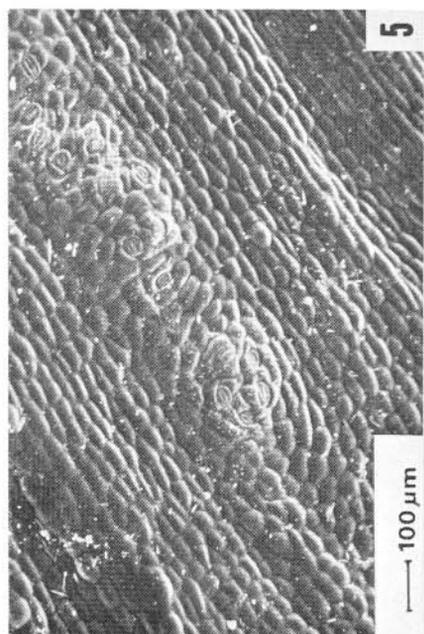
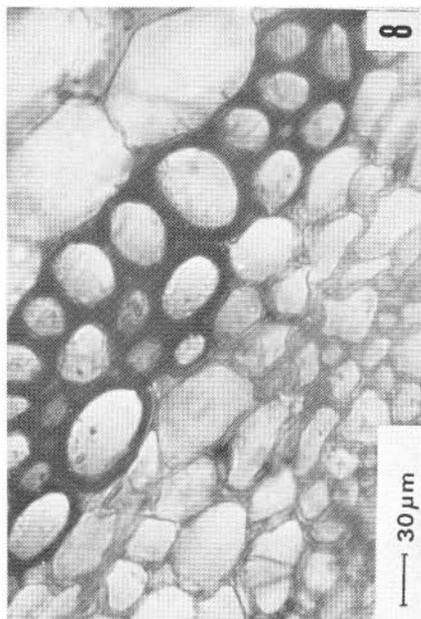
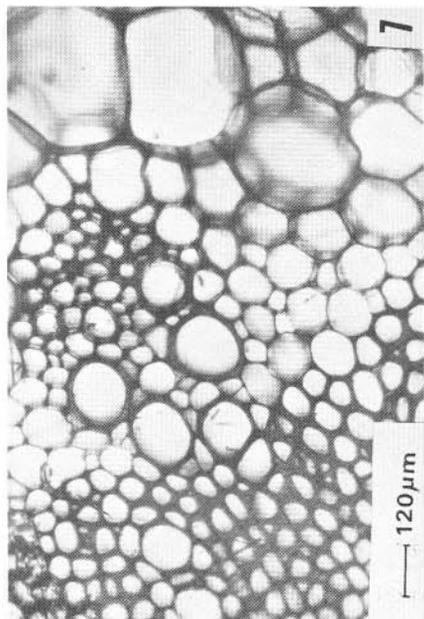
- Daubenmire, R. E.**
1947. Plants and Environment. Wiley, New York.
- De Bary, A.**
1884. Comparative Anatomy of Phanerogams and Ferns. Oxford.
- Duval-Jouve, J.**
1869. Sur quelques tissues de *Juncus* et de Graminées. Bull. Soc. Bot. Fr., 16: 404-410.
- Duval-Jouve, J.**
1871. Sur quelques tissues de *Juncus* et de Graminées. Bull. Soc. Bot. Fr., 18: 231-239.
- Duval-Jouve, J.**
1873. Diaphragmes vasculifères des Monocotylédones aquatiques. Mém. Acad. Sci. Lett. Montpellier, 8: 157-176.
- Esau, K.**
1977. Anatomy of seed plants. 2a ed. Wiley, New York.
- Kaul, R.**
1971. Diaphragms and Aerenchyma in *Scirpus validus*. Amer. J. Bot., 58: 808-816.
- Kaul, R.**
1972. Adaptive leaf architecture in emergent and floating *Sparganium*. Amer. J. Bot., 59: 270-278.

- Kaul, R.**
1973. Development of Foliar Diaphragms in *Sparganium eurycarpum*. Amer. J. Bot., 60: 944-949.
- Kaul, R.**
1974. Ontogeny of Foliar Diaphragms in *Typha latifolia*. Amer. J. Bot., 61: 318-323.
- Metcalf, C. R., & L. Chalk**
1965. Anatomy of the Dicotyledons. vol. 2. Clarendon Press. Oxford.
- Schenck, H.**
1887. Vergleichende Anatomie der submersen Gewächse. Bibl. Bot. I.
- Sharman, B. C.**
1943. Tannic acid and iron alum with safranin and orange G in studies of the shoot apex. Stain Tech., 18: 105-111.
- Snow, L.**
1914. Contributions to the knowledge of the diaphragms of water plants. I. *Scirpus validus*. Bot. Gaz., 58: 495-517.
- Standley, P. C.**
1937. Flora of Costa Rica. II. Field Museum of Natural History. Chicago.
- Williams, W. T., & D. A. Barber**
1961. The functional significance of aerenchyma in plants. Symp. Soc. Biol., 15: 132-144.
-

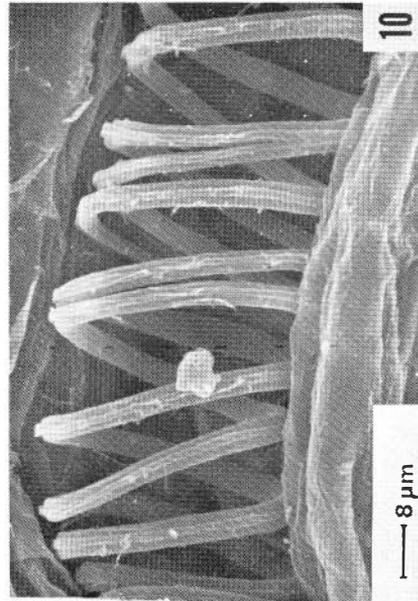
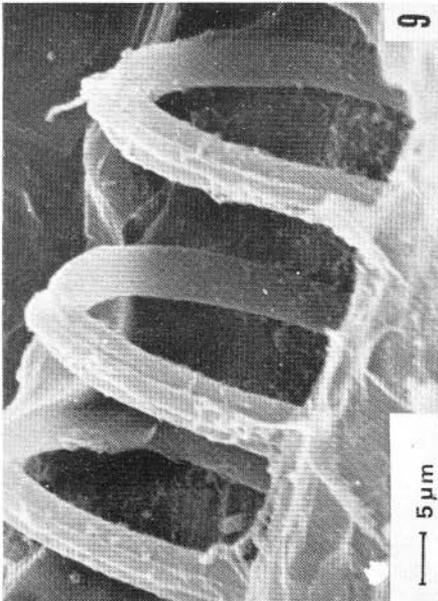
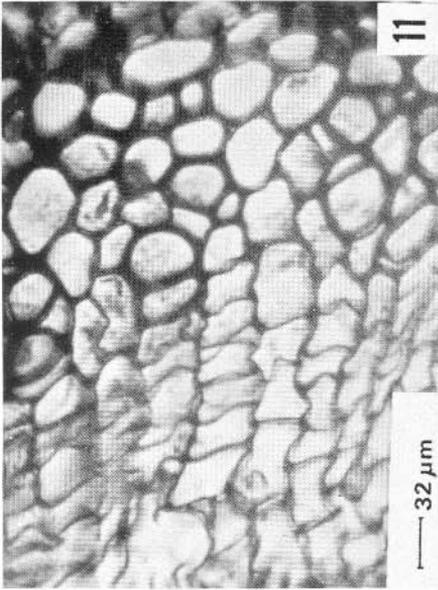
- Fig. 1. Epidermis adaxial de la hoja de *P. icosandra*
- Fig. 2. Estoma de la superficie adaxial
- Fig. 3. Estructura glandular en la epidermis adaxial de la lámina foliar
- Fig. 4. Vista general de la epidermis del tallo



- Fig. 5. Aglomeraciones estomáticas en la epidermis del tallo
- Fig. 6. Colénquima angular de los tallos jóvenes. Sección transversal
- Fig. 7. Xilema primario y secundario del tallo de *P. icosandra*
- Fig. 8. Fibras del protofloema. Sección transversal del tallo



- Fig. 9. Engrosamientos anulares de los elementos traqueales del protoxilema
- Fig. 10. Engrosamientos helicoidales del xilema del tallo. Sección longitudinal
- Fig. 11. Cambium. Sección transversal del tallo
- Fig. 12. Células del diafragma



- Fig. 13. Vista general de las células medulares próximas al diafragma
- Fig. 14. Inserción del diafragma en el parénquima medular periférico
- Fig. 15. Etapas tempranas en la formación de los diafragmas

